

(19)



Europäisches Patentamt
European Patent Office
Office européen des brevets

(11) Numéro de publication:

0 162 036
A1

(12)

DEMANDE DE BREVET EUROPEEN

(21) Numéro de dépôt: 85870069.3

(51) Int. Cl.: C 07 D 207/27, A 61 K 31/40

(22) Date de dépôt: 14.05.85

(30) Priorité: 15.05.84 GB 8412357

(71) Demandeur: U C B, S.A., 326, Avenue Louise,
B-1050 Bruxelles (BE)(43) Date de publication de la demande: 21.11.85
Bulletin 85/47(72) Inventeur: Gobert, Jean, 120, rue du Cornet,
B-1040 Bruxelles (BE)
Inventeur: Geerts, Jean-Pierre, 12, Habaru,
B-6737 Leglise (BE)
Inventeur: Bodson, Guy, 248, rue de la Chevratte,
B-6739 Bellefontaine (Tintigny) (BE)(84) Etats contractants désignés: AT BE CH DE FR GB IT LI
LU NL SE(74) Mandataire: Dusseldorp, Raymond et al, U.C.B. S.A.
Département D.T.B. 33, rue d'Anderlecht,
B-1620 Drogenbos (BE)

(54) (S)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétamide.

(57) Le (S)-α-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétamide, sa préparation et compositions thérapeutiques renfermant ledit composé. Il est préparé soit par réaction de l'acide (S)-α-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétique successivement avec un halogénoformiate d'alkyle et de l'ammoniac, soit par cyclisation d'un (S)-2-aminobutanamide de formule $X-CH_2CH_2-Y-NHCH-(C_2H_5)CONH_2$ dans laquelle lorsque $X = ZOOC-$, $Y = -CH_2-$, et lorsque $X = HalCH_2-$, $Y = -CO-$; $Z = alkyle$ et $Hal = halogène$.

Le composé est utilisable notamment pour le traitement des agressions de type hypoxique et ischémique.

EP 0 162 036 A1

ACTORUM AG

(S)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétamide.

La présente invention se rapporte à un composé nouveau, le (S)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétamide ainsi qu'à des procédés pour le préparer. Elle concerne également les compositions thérapeutiques
5 renfermant ledit composé.

Dans le brevet britannique n° 1.309.692 au nom de la demanderesse, on décrit l'alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétamide (point de fusion 122°C) et on indique que les substances de ce type sont utilisables dans le domaine thérapeutique, par exemple pour le traitement du mal de
10 mouvement, des hyperkinésies, des hypertonies et de l'épilepsie.

D'autre part, on y mentionne aussi que ces composés peuvent trouver une application dans le domaine des troubles de la mémoire dans des conditions normales ou pathologiques.

En outre, il est connu également que l'alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidine-
15 acétamide possède une activité de protection envers les agressions du système nerveux central causées par des hypoxies, de l'ischémie cérébrale, etc. (Pharmazie, 37/11, (1982), 753-765).

Poursuivant ses travaux de recherche dans ce domaine, la demanderesse a préparé et isolé l'énantiomère lévogyre de l'alpha-éthyl-2-oxo-1-
20 pyrrolidineacétamide et elle a trouvé que ce composé se distingue de manière tout à fait imprévue de la forme racémique connue

(1) par une activité de protection envers l'hypoxie (anti-hypoxie)
10 fois plus élevée et

(2) par une activité de protection envers l'ischémie cérébrale (anti-
25 ischémie) 4 fois supérieure.

De cet ensemble imprévisible de propriétés, il résulte que l'énantiomère lévogyre de l'alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétamide convient mieux pour le traitement et la prévention des agressions du type hypoxique et ischémique du système nerveux central. La contribution importante du
30 phénomène hypoxique dans certaines pathologies du système nerveux central laisse présager un effet thérapeutique de ce produit dans le traitement des suites d'accidents vasculaires cérébraux et de traumatismes crâniens, des séquelles du processus de vieillissement ou des

insuffisances circulatoires du système nerveux central résultant d'accidents cérébroischémiques ou d'hypoxie survenant p.ex. lors de la naissance. Par extension, il est permis d'envisager l'utilisation de ce produit dans les affections du type hypoxique d'autres organes ou tissus:

5 coeur et reins.

C'est pourquoi la présente invention a pour objet l'énantiomère lévogyre de l' α -éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétamide qui possède la configuration absolue S, ledit composé étant substantiellement exempt de l'énantiomère dextrogyre ayant la configuration absolue R.

10 Le (S)- α -éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétamide conforme à la présente invention ne peut pas être obtenu directement à partir de la forme racémique par séparation des deux énantiomères. Il peut être préparé par l'un ou l'autre des procédés suivants:

(a) on fait réagir l'acide (S)- α -éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétique

15 successivement avec (1) un halogénoformiate d'alkyle de formule HalCOOZ dans laquelle Hal représente un atome d'halogène et Z un radical alkyle ayant 1 à 4 atomes de carbone et (2) de l'ammoniac. L'halogénoformiate d'alkyle est de préférence du chloroformiate d'éthyle.

20 Cette réaction est généralement effectuée dans le dichlorométhane, à une température comprise entre -10 et -60°C . L'acide (S)- α -éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétique, utilisé dans cette réaction, peut être obtenu à partir de l'acide (\pm)- α -éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétique racémique, par résolution chimique selon

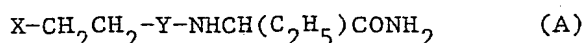
25 des méthodes connues en soi, par exemple en formant un sel de cet acide avec une base optiquement active et en isolant le sel formé avec l'acide (S)- α -éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétique, par cristallisations successives dans un solvant approprié (p.ex. le benzène).

30 A titre d'exemples de bases optiquement actives pouvant être utilisées pour cette résolution, on peut citer des alcaloïdes comme la brucine, la quinine, la strychnine, la quinidine, la cinchonidine et des amines comme l' α -méthyl-benzylamine et la déhydroabiétylamine (cfr. S.H. WILEN et al., Tetrahedron, 33, (1977), 2725-2736). Des

35 résultats particulièrement favorables sont obtenus en utilisant l' α -méthyl-benzylamine et la déhydroabiétylamine.

Quant à l'acide (+)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétique racémique utilisé comme matière première, il peut être obtenu par saponification des esters alkyles correspondants, dont la synthèse a été décrite dans le brevet britannique n° 1.309.692.

- 5 (b) on cyclise un (S)-2-amino-butanamide de formule



dans laquelle

X représente un radical ZOOC- ou HalCH₂-, Z étant un radical alkyle ayant 1 à 4 atomes de carbone et Hal un atome d'halogène, de préférence le chlore ou le brome, et

Y représente un radical -CH₂- ou -CO-,

avec la restriction que lorsque X représente un radical ZOOC-, Y est un radical -CH₂- et lorsque X représente un radical HalCH₂-, Y est un radical -CO-.

- 15 La cyclisation du (S)-2-amino-butanamide de formule A est effectuée dans un solvant inerte, tel que le toluène ou le dichlorométhane, à une température comprise entre 0°C et la température d'ébullition du solvant. Cette cyclisation s'opère avantageusement en présence d'une substance basique, en tant que catalyseur. Ce catalyseur est de
- 20 préférence la 2-hydroxypyridine, lorsque le composé de formule A est un ester (X = ZOOC-) et le bromure de tétrabutylammonium lorsque le composé de formule A est un halogénure (X = HalCH₂-).
- Lorsque X représente un radical ZOOC- et Y est un radical -CH₂-, le composé de formule A est un (S)-4-1-(aminocarbonyl)propyl1-amino-7-butyrate d'alkyle de formule ZOOCCH₂CH₂CH₂NHCH(C₂H₅)CONH₂, dans
- 25 laquelle Z a la signification donnée plus haut. Ce dernier peut être préparé par condensation de (S)-2-amino-butanamide avec un 4-halogénobutyrate d'alkyle de formule ZOOCCH₂CH₂CH₂-Hal dans laquelle Z a la signification donnée plus haut et Hal est un atome d'halogène.
- 30 Lorsque X représente un radical HalCH₂- et que Y est alors un radical -CO-, le composé de formule A est un (S)-N-1-(aminocarbonyl)propyl1-4-halogéno-butanamide de formule HalCH₂CH₂CH₂CONHCH(C₂H₅)CONH₂, dans laquelle Hal a la signification donnée plus haut. Ce dernier peut être préparé par condensation de (S)-2-amino-butanamide avec un
- 35 halogénure de 4-halogénobutyle de formule HalCH₂CH₂CH₂COHal dans laquelle Hal est un atome d'halogène.

La réaction entre le (S)-2-amino-butanamide d'une part et le 4-halogénobutyrate d'alkyle ou l'halogénure de 4-halogénobutyryle d'autre part, est généralement effectuée dans un solvant inerte, tel que le benzène, le toluène, le dichlorométhane ou l'acétonitrile, à une température comprise entre -5 et + 100°C et en présence d'un accepteur d'acide tel qu'une base organique tertiaire (p.ex. la triéthylamine) ou une base minérale (p.ex. le carbonate ou l'hydroxyde de potassium ou de sodium).

Lorsque X représente un radical HalCH_2- et Y un radical $-\text{CO}-$, il n'est pas indispensable d'isoler le composé de formule A obtenu à partir des matières premières citées plus haut. En effet, le composé de formule A, obtenu in situ, peut être cyclisé directement en le (S)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétamide conforme à la présente invention (voir l'exemple 4 ci-après).

Le (S)-2-amino-butanamide utilisé comme matière première, peut être obtenu à partir de l'acide (S)-2-amino-butyrique par ammonolyse de l'ester méthylique correspondant selon la méthode décrite par K. FOLKERS et al. dans J. Med. Chem. 14, (6), (1971), 484-487.

Les exemples qui suivent illustrent l'invention sans la limiter. Dans ces exemples, la pureté optique des produits obtenus a été vérifiée par la détermination calorimétrique des enthalpies différentielles (C. FOUQUEY et J. JACQUES, Tetrahedron, 23, (1967), 4009-19).

Exemple 1. a) Préparation du sel de (R)-alpha-méthyl-benzylamine de l'acide (S)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétique.

Dans un réacteur de 50 litres, on met en suspension 8,7 kg (50,8 moles) d'acide (+)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétique racémique dans 21,5 litres de benzène anhydre. A cette suspension, on ajoute progressivement une solution contenant 3,08 kg (25,45 moles) de (R)-(+)-alpha-méthyl-benzylamine et 2,575 kg (25,49 moles) de triéthylamine dans 2,4 litres de benzène anhydre. On porte ensuite le mélange à reflux jusqu'à dissolution complète. On refroidit et on laisse cristalliser pendant quelques heures. On obtient ainsi 5,73 kg de sel de (R)-alpha-méthyl-benzylamine de l'acide (S)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétique.

P.F.: 148-151°C. Rendement: 77,1%.

Ce sel peut être purifié par chauffage à reflux pendant 4 heures dans 48,3 litres de benzène. On refroidit et on filtre. On recueille ainsi 5,040 kg du sel souhaité.

P.F.: 152-153,5°C. Rendement: 67,85%.

5 b) Préparation de l'acide (S)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétique.

On dissout 5,04 kg du sel obtenu en a) ci-dessus dans 9 litres d'eau. On y ajoute lentement 710 g d'une solution d'hydroxyde de sodium à 30%. Le pH atteint 12,6 et la température ne dépasse pas 25°C. On agite la solution encore pendant 20 minutes et on extrait l'alpha-méthyl-
10 benzylamine libérée en plusieurs fois par un volume total de 18 litres de benzène.

On acidifie ensuite la phase aqueuse jusqu'à une valeur de pH de 1,1 par addition de 3,2 litres d'acide chlorhydrique 6N. Le précipité formé est
15 filtré, lavé à l'eau et séché.

On extrait le filtrat en plusieurs fois par un volume total de 50 litres de dichlorométhane. On sèche la phase organique sur sulfate de sodium, on la filtre et on l'évapore à sec sous pression réduite.

Le résidu obtenu après évaporation et le précipité isolé précédemment
20 sont dissous ensemble à chaud dans 14 litres de dichlorométhane. Le dichlorométhane est distillé et remplacé au fur et à mesure par 14 litres de toluène dans lequel le produit cristallise. On refroidit à la température ambiante et on filtre les cristaux. On obtient ainsi 2,780 kg d'acide (S)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétique.

25 P.F.: 125,9°C. $[\alpha]_D^{20} = -26,4^\circ$ (c = 1, acétone).

Rendement: 94,5%.

c) Préparation du (S)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidine-acétamide.

On met en suspension 34,2 g (0,2 mole) de l'acide (S)-alpha-éthyl-2-oxo-
30 1-pyrrolidineacétique dans 225 ml de dichlorométhane, refroidi à -30°C.

On y ajoute goutte à goutte 24,3 g (0,24 mole) de triéthylamine en 15 minutes. Le mélange réactionnel est alors refroidi à -40°C et on y ajoute 24,3 g (0,224 mole) de chloroformiate d'éthyle en 12 minutes.

Ensuite on fait passer un courant d'ammoniac pendant 4 heures et demie.

35 On laisse revenir à la température ambiante et on élimine les sels d'ammonium formés par filtration et lavage avec du dichlorométhane. On

distille le solvant sous pression réduite. Le résidu solide ainsi obtenu est mis en dispersion dans 55 ml de toluène et agité pendant 30 minutes, puis filtré et recristallisé dans 280 ml d'acétate d'éthyle en présence de 9 g de tamis moléculaire 0,4 nm en poudre.

- 5 On obtient 24,6 g de (S)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétamide.
P.F.: 115-118°C. $[\alpha]_D^{25} = -89,7^\circ$ (c = 1, acétone). Rendement: 72,3%.

Analyse pour $C_8H_{14}N_2O_2$ en %

calculé :	C 56,45	H 8,29	N 16,46
trouvé :	56,71	8,22	16,48

- 10 L'acide ($^+$)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétique racémique utilisé dans cette synthèse a été préparé de la manière décrite ci-dessous. Dans un ballon de 20 litres contenant 3,65 kg (18,34 moles) de ($^+$)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétate d'éthyle, on ajoute en deux heures, à une température ne dépassant pas 60°C, une solution contenant 788 g
15 (19,7 moles) d'hydroxyde de sodium dans 4,35 litres d'eau. Lorsque cette addition est terminée, on porte la température du mélange à 80°C et on distille l'alcool formé jusqu'à ce que la température dans le milieu atteigne 100°C. On refroidit à 0°C et on ajoute en 2 heures et demie, 1,66 litres (19,80 moles) d'acide chlorhydrique 12 N. On filtre le
20 précipité, on le lave avec deux litres de toluène et on le recristallise dans de l'alcool isopropylique. On obtient ainsi 2,447 kg d'acide ($^+$)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétique racémique, fondant à 155-156°C. Rendement: 78%.

Analyse pour $C_8H_{13}NO_3$ en %

25 calculé :	C 56,12	H 7,65	N 8,18
trouvé :	55,82	8,10	7,97

Exemple 2. a) Préparation du (S)-4- β -(aminocarbonyl)propylamino- β -butyrate d'éthyle.

- A une suspension de 47,75 g (0,345 mole) de chlorhydrate de (S)-2-amino-
30 butanamide ($[\alpha]_D^{25} : +26,1^\circ$; c = 1, méthanol) dans 400 ml de toluène, on ajoute 143,6 ml (1,035 mole) de triéthylamine. On porte le mélange à 80°C et on y introduit goutte à goutte 67,2 g (0,345 mole) de 4-bromobutyrate d'éthyle.

- On maintient le milieu réactionnel à 80°C pendant 10 heures, puis on
35 filtre à chaud pour éliminer les sels de triéthylamine. On évapore le filtrat sous pression réduite et on obtient 59 g d'un résidu huileux

constitué essentiellement de produit de monoalkylation et contenant un peu de dérivé dialkylé.

Le produit, obtenu à l'état brut, a été utilisé tel quel, sans autre purification, dans la préparation du (S)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidine-acétamide par cyclisation.

b) Préparation du (S)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidine-acétamide.

On met 54 g du produit brut obtenu en a) ci-dessus, en solution dans 125 ml de toluène, en présence de 2 g de 2-hydroxypyridine. On maintient le mélange à 110°C pendant 12 heures.

On filtre à chaud l'insoluble, puis on évapore le filtrat sous pression réduite.

On purifie le résidu par chromatographie sur une colonne de 1,1 kg de silice (diamètre de la colonne: 5 cm; éluant: un mélange d'acétate d'éthyle, de méthanol et d'ammoniaque concentré dans des proportions en volume de 85 : 12 : 3).

Le produit isolé est recristallisé dans 50 ml d'acétate d'éthyle. On recueille ainsi 17,5 g de (S)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétamide. P.F.: 117°C. $[\alpha]_D^{25}$: -90,0° (c = 1, acétone). Rendement: 41%.

Exemple 3. a) Préparation du (S)-N-[1-(aminocarbonyl)propyl]-4-chloro-butanamide.

On mélange 345,6 g (2,5 moles) de carbonate de potassium broyé et 138,5 g (1 mole) de chlorhydrate de (S)-2-amino-butanamide dans 2,5 litres d'acétonitrile. On refroidit le mélange réactionnel vers 0°C et on y introduit goutte à goutte, une solution de 129,2 g (1,2 mole) de chlorure de 4-chlorobutyryle dans 500 ml d'acétonitrile. Après l'addition, on laisse le mélange réactionnel revenir à la température ambiante; on élimine l'insoluble par filtration et on évapore le filtrat sous pression réduite. Le résidu brut obtenu est agité pendant 30 minutes dans 1,2 litre d'éther anhydre à une température comprise entre 5 et 10°C. On filtre le précipité, on le lave par 2 fois 225 ml d'éther et on le sèche sous vide. On obtient ainsi 162,7 g de (S)-N-[1-(aminocarbonyl)propyl]-4-chloro-butanamide.

P.F.: 118-123°C. $[\alpha]_D^{25}$: -18° (c = 1, méthanol). Rendement: 78,7%.
Le produit brut ainsi obtenu convient bien pour le stade suivant de cyclisation. Il peut cependant être purifié par agitation pendant une

heure dans de l'acétate d'éthyle anhydre.

P.F.: 120-122°C. $[\alpha]_D^{25}$: -22,2° (c = 1, méthanol).

b) Préparation du (S)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidine-acétamide.

- 5 A 0°C et sous atmosphère d'azote, on mélange dans 45 ml de dichlorométhane, 6,2 g (0,03 mole) de (S)-N-1-(aminocarbonyl)propyl-4-chlorobutanamide et 0,484 g (0,0015 mole) de bromure de tétrabutylammonium. Sans dépasser + 2°C dans le mélange réactionnel, on ajoute en 30 minutes 2,02 g (0,036 mole) d'hydroxyde de potassium pulvérulent. Le mélange est
- 10 ensuite agité pendant une heure, puis on y ajoute encore 0,1 g (0,0018 mole) d'hydroxyde de potassium broyé et on agite encore pendant 30 minutes à 0°C. On laisse revenir à température ambiante. On élimine l'insoluble par filtration et on concentre le filtrat sous pression réduite. Le résidu obtenu est recristallisé dans 40 ml d'acétate
- 15 d'éthyle en présence de 1,9 g de tamis moléculaire 0,4 nm, qui est éliminé par filtration à chaud. On obtient ainsi 3,10 g de (S)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétamide.
- P.F.: 116,7°C. $[\alpha]_D^{25}$: -90,1° (c = 1, acétone). Rendement: 60,7%.

Exemple 4. Préparation du (S)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétamide.

- 20 Cet exemple illustre une variante du procédé de l'exemple 3, dans laquelle le 4-chloro-butanamide intermédiaire obtenu in situ, n'est pas isolé.
- A une suspension de 69,25 g (0,5 mole) de chlorhydrate de (S)-2-aminobutanamide dans 600 ml de dichlorométhane, on ajoute à la température
- 25 ambiante 84 g de sulfate de sodium anhydre. On refroidit à 0°C et on ajoute 115 g d'hydroxyde de potassium broyé, puis 8,1 g (0,025 mole) de bromure de tétrabutylammonium dissous dans 100 ml de dichlorométhane. Sous bonne agitation, on ajoute goutte à goutte, à 0°C, une solution de 77,5 g de chlorure de 4-chlorobutyle dans 100 ml de dichlorométhane.
- 30 Après 5 heures de réaction, on ajoute encore 29 g d'hydroxyde de potassium broyé. Deux heures plus tard, on filtre le mélange réactionnel sur hyflo-cel et on évapore le filtrat sous pression réduite. On met le résidu (93,5 g) en dispersion dans 130 ml de toluène chaud pendant 45 minutes. On filtre et on évapore sous pression réduite. On dissout le
- 35 résidu (71,3 g) à chaud dans 380 ml d'acétate d'éthyle, auquel on ajoute 23 g de tamis moléculaire 0,4 nm en poudre. On porte ce mélange à reflux

et on filtre à chaud. Après refroidissement du filtrat, le produit souhaité cristallise. On recueille ainsi 63 g de (S)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétamide.

P.F.: 117°C. $[\alpha]_D^{25}$: -91,3° (c = 1, acétone). Rendement: 74,1%.

5 Essais pharmacologiques.

L'alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétamide racémique (produit A) et le (S)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétamide (produit B) de la présente invention ont été soumis à des tests pharmacologiques.

I. Protection envers l'hypoxie (souris).

- 10 a. Principe (C. GIURGEA et F. MOURAVIEFF-LESUISSE; Proc.Xth Intern. Congr.of the Coll.Intern.Neuro-psych. - Pergamon Press, Oxford and New York, 1978, p.1623-1631).

Le principe de ce test consiste à mesurer les possibilités de survie de l'organisme soumis à une atmosphère progressivement appauvrie en oxygène. Etant donné la sensibilité particulière du système nerveux à ce type d'agression, les résultats obtenus dans ce test peuvent s'interpréter comme une mesure de résistance du système nerveux. Les produits augmentant la résistance des animaux conviennent par conséquent pour le traitement et la prévention des agressions du type hypoxique du système nerveux central.

b. Méthode.

L'appareil consiste en une enceinte étanche et transparente mesurant 37 cm de haut, 39 cm de profondeur et 97 cm de largeur. Cette cage de 140 litres est munie de 60 compartiments transparents de 6 x 10 x 10 cm permettant d'accueillir séparément 60 souris.

Un ventilateur y assure le brassage de l'atmosphère qui circule parmi les compartiments au travers d'un plancher grillagé. L'enceinte est munie d'un dispositif d'admission d'azote à débit constant et d'une ouverture communiquant avec l'air ambiant.

30 Les animaux sont des souris (souche NMRI) mâles de 20 à 22 g. Celles-ci sont mises à jeun la veille du test. L'expérience se pratique le lendemain et simultanément sur trois groupes de 20 souris: un groupe témoin reçoit de l'eau (25 ml/kg) par voie orale et les deux autres groupes reçoivent chacun per os un produit à tester.

35 Vingt-cinq minutes après l'administration, les animaux sont répartis

au hasard parmi les compartiments de manière à ce qu'aucun des trois groupes d'animaux ne soit localisé en un endroit préférentiel de la cage.

5 Trente minutes après l'administration, la cage est fermée et l'azote y est admis à un débit constant (7,750 litres d'azote technique par minute) pendant environ 37 minutes; l'atmosphère contient alors 3,7% d'oxygène.

10 La cage reste fermée jusqu'au moment critique où l'on n'observe plus que trois survivants parmi les vingt animaux témoins. A ce moment, la cage est ouverte et l'air ambiant y est admis. Quelques instants plus tard, les survivants sont dénombrés parmi chaque groupe d'animaux.

15 Pour chaque dose de produit à tester, les expériences sont répétées une ou deux fois, et les résultats sont globalisés pour obtenir un minimum de 40 (ou 60) animaux traités par dose et 40 (ou 60) animaux témoins correspondants.

20 Pour chaque dose de produit testé, le nombre d'animaux survivants parmi ceux traités par le produit est comparé au nombre d'animaux survivants parmi les animaux témoins. La différence entre ces nombres exprime l'activité de protection du produit envers l'hypoxie causée par la privation d'oxygène. La signification statistique (P) de cette différence est évaluée par le test de Fischer-Yates.

c. Résultats.

I

25 Dans le tableau/ci-dessous, on donne les résultats obtenus pour des doses croissantes des produits A et B.

TABLEAU I

	Produit testé	Dose per os en mmol/kg	Nombre d'animaux survivants		P
			témoins	traités	
30	A	0,032	12/60	16/60	NS
		0,1	8/60	7/60	NS
		0,16	12/60	12/60	NS
		0,32	10/60	30/60	< 0,001
35	B	0,016	5/40	11/40	NS
		0,032	8/40	17/40	< 0,6
		0,1	6/40	19/40	< 0,005

TABLEAU I (suite)

Produit testé	Dose per os en mmol/kg	Nombre d'animaux survivants		P
		témoins	traités	
5	0,16	6/40	19/40	< 0,005
	0,32	5/40	17/40	< 0,01

NS = différence non significative.

d. Conclusions.

10 Dans ce test, l'énantiomère lévogyre de l'invention (produit B) augmente la survie des animaux privés d'oxygène à partir d'une dose de 0,032 mmol/kg. Le racémate (produit A) exerce une activité similaire seulement à partir de 0,32 mmol/kg (1re dose efficace) et est donc 10 fois moins actif que l'énantiomère lévogyre.

II. Protection envers l'ischémie cérébrale (rats).

15 a. Principe (C. GIURGEA et F. MOURAVIEFF-LESUISSE; loc.cit. sous I.a.).

Des contrôles électroencéphalographiques ont montré que la ligature des deux carotides communes chez le rat, provoque une véritable ischémie cérébrale: le tracé de l'électroencephalogramme s'applatit et devient même isoélectrique (silence électrique).

b. Méthode.

Des rats Wistar mâles d'un poids compris entre 250 et 350 g sont anesthésiés au pentobarbital, administré par voie intrapéritonéale à la dose de 50 mg/kg (0,5 ml/100 g).

25 Immédiatement après l'anesthésie, on administre aux animaux, par voie intrapéritonéale, à raison de 0,5 ml/100 g, soit le produit à tester dissous dans une solution de chlorure de sodium isotonique (animaux traités), soit uniquement une solution de chlorure de sodium isotonique ou placebo (animaux témoins).

30 Environ 20 minutes plus tard, les deux carotides communes sont dénudées et environ dix minutes après, elles sont ligaturées simultanément. Cette opération se fait simultanément sur les animaux témoins et sur les animaux traités.

35 Une heure après l'administration du produit à tester ou du placebo, on administre à nouveau par voie intrapéritonéale, une même dose,

soit du produit à tester (aux animaux traités), soit du placebo (aux animaux témoins).

Cinq heures après la première administration, on injecte une troisième fois une dose, soit du produit à tester (aux animaux traités survivants), soit du placebo (aux animaux témoins survivants).

Vingt-quatre heures après la première administration, on vérifie, chez tous les animaux, sous anesthésie au pentobarbital, l'efficacité de la ligature par section des carotides en aval de celle-ci. On note le nombre d'animaux survivants tant parmi les animaux traités que parmi les animaux témoins. Pour chaque dose de produit testé, le nombre d'animaux survivants parmi ceux traités par le produit est comparé au nombre d'animaux survivants parmi les animaux témoins. La différence exprime l'activité de protection du produit envers la létalité induite par la ligature simultanée des deux carotides. La signification statistique (P) de cette différence est évaluée par le test de Brandt-Snedecor.

c. Résultats.

Dans le tableau II ci-dessous, on donne les résultats obtenus pour des doses croissantes des produits A et B:

20

TABLEAU II

Produit testé	Dose ip en mmol/kg	Nombre d'animaux survivants		P
		témoins	traités	
A	0,32	6/29	8/29	NS
	0,64	11/30	21/30	0,01
B	0,1	9/29	14/29	NS
	0,16	6/29	14/30	0,05
	0,32	8/30	19/29	0,01

NS = différence non significative.

30

d. Conclusions.

Le tableau II montre que le racémate (produit A) n'est actif qu'à partir d'une dose de 0,64 mmol/kg. Par contre, l'énantiomère lévogyre de l'invention (produit B) protège les animaux contre la létalité induite par la ligature simultanée des deux carotides dès 0,16 mmol/kg et s'avère donc 4 fois plus actif que le racémate.

35

III. Toxicité.

Dans le tableau III ci-dessous, on donne, pour les produits A et B, les DL 50 par voie intraveineuse et en mg/kg, déterminées chez la souris mâle et le rat mâle:

5

TABLEAU III

<u>Produit testé</u>	<u>DL 50 en mg/kg</u>	
	<u>souris</u>	<u>rat</u>
A	1790	1500
B	1081	1038

10

Il ressort de ce tableau que l'énantiomère lévogyre de l'invention (produit B) est, comme le racémate (produit A) très peu toxique et que la dose toxique se situe bien au-dessus de la dose active.

15

Le composé de la présente invention est administrable soit par voie orale sous forme de compositions solides ou liquides, par exemple sous forme de comprimés, gélules, dragées, capsules en gélatine, solutions ou sirops, soit par voie parentérale sous forme de solutions ou suspensions injectables.

20

Les formes pharmaceutiques telles que solutions ou comprimés sont préparées selon les méthodes couramment utilisées par les pharmaciens. On mélange le composé de l'invention avec un véhicule solide ou liquide, non toxique, pharmaceutiquement acceptable et éventuellement avec un agent dispersant, un agent stabilisant et le cas échéant, avec des agents colorants, édulcorants, etc.

25

Les excipients pharmaceutiques solides pour la préparation de comprimés ou de capsules sont, par exemple, l'amidon, le talc, le carbonate de calcium, le lactose, le sucrose, le stéarate de magnésium, etc.

30

Le pourcentage de produit actif dans les compositions pharmaceutiques peut varier dans des limites très larges selon le mode d'administration et l'état du patient, la posologie humaine pouvant varier dans ces conditions entre 250 mg à 3 g par jour.

A titre d'exemple non limitatif d'une composition contenant le composé de l'invention, on donne ci-après un exemple d'une gélule à 100 mg utilisable per os:

35

produit B	100 mg
avicel *	217 mg
stéarate de Mg	5 mg

* cellulose microcristalline

R e v e n d i c a t i o n s

1. (S)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidoneacétamide.
2. Procédé de préparation du (S)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétamide, caractérisé en ce qu'on fait réagir l'acide (S)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétique successivement avec (1) un halogénoformiate d'alkyle de formule HalCOOZ dans laquelle Hal représente un atome d'halogène et Z un radical alkyle ayant 1 à 4 atomes de carbone, et (2) de l'ammoniac.
3. Procédé de préparation du (S)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétamide, caractérisé en ce qu'on cyclise, dans un solvant inerte et en présence d'une substance basique, un (S)-2-amino-butanamide de formule

$$\text{X-CH}_2\text{CH}_2\text{-Y-NHCH(C}_2\text{H}_5\text{)CONH}_2 \quad (\text{A})$$
 dans laquelle X représente un radical $\text{ZOOCH}_2\text{-}$ ou $\text{HalCH}_2\text{-}$, Z étant un radical alkyle ayant 1 à 4 atomes de carbone et Hal un atome d'halogène, et Y représente un radical $\text{-CH}_2\text{-}$ ou -CO- , avec la restriction que lorsque X représente un radical $\text{ZOOCH}_2\text{-}$, Y est un radical $\text{-CH}_2\text{-}$ et lorsque X représente un radical $\text{HalCH}_2\text{-}$, Y est un radical -CO- .
4. Procédé selon la revendication 3, caractérisé en ce que le composé de formule A est un (S)-4- $\overline{\text{I}}$ -(aminocarbonyl)propyl $\overline{\text{I}}$ -amino-butyraté d'alkyle de formule $\text{ZOOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCH(C}_2\text{H}_5\text{)CONH}_2$ et en ce qu'il est préparé par condensation de (S)-2-amino-butanamide avec un 4-halogéno-butyraté d'alkyle de formule $\text{ZOOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Hal}$, Z ayant la signification donnée à la revendication 3 et Hal étant un atome d'halogène.
5. Procédé selon la revendication 3, caractérisé en ce que le composé de formule A est un (S)-N- $\overline{\text{I}}$ -(aminocarbonyl)propyl $\overline{\text{I}}$ -4-halogéno-butanamide de formule $\text{HalCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONHCH(C}_2\text{H}_5\text{)CONH}_2$ et en ce qu'il est préparé par condensation de (S)-2-amino-butanamide avec un halogénure de 4-halogénobutyryle de formule $\text{HalCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COHal}$, Hal étant un atome d'halogène.

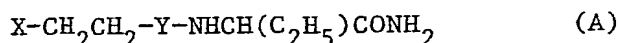
6. Compositions thérapeutiques renfermant une quantité thérapeutiquement efficace de (S)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétamide en association avec des excipients pharmaceutiques solides ou liquides.

R e v e n d i c a t i o n s (spécifiques à l'Autriche)

1. Procédé de préparation du (S)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétamide, caractérisé en ce que:

5 a) on fait réagir l'acide (S)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétique successivement avec (1) un halogénoformiate d'alkyle de formule HalCOOZ dans laquelle Hal représente un atome d'halogène et Z un radical alkyle ayant 1 à 4 atomes de carbone, et (2) de l'ammoniac; ou

10 b) on cyclise dans un solvant inerte et en présence d'une substance basique, un (S)-2-amino-butanamide de formule



dans laquelle

15 X représente un radical ZOOC- ou $\text{HalCH}_2\text{-}$, Z étant un radical alkyle ayant 1 à 4 atomes de carbone et Hal un atome d'halogène, et

Y représente un radical $\text{-CH}_2\text{-}$ ou -CO- ,

avec la restriction que lorsque X représente un radical ZOOC- , Y est un radical $\text{-CH}_2\text{-}$ et lorsque X représente un radical $\text{HalCH}_2\text{-}$, Y est un radical -CO- .

- 20 2. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que le composé de formule A est un (S)-4- $\overline{\text{I}}$ -1-(aminocarbonyl)propyl $\overline{\text{I}}$ -amino-butyrat d'alkyle de formule $\text{ZOOCCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCH(C}_2\text{H}_5\text{)CONH}_2$ et en ce qu'il est préparé par condensation de (S)-2-amino-butanamide avec un 4-halogéno-butyrat d'alkyle de formule $\text{ZOOCCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Hal}$, Z étant un radical alkyle ayant 1 à 4 atomes de carbone et Hal un atome d'halogène.

- 30 3. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que le composé de formule A est un (S)-N- $\overline{\text{I}}$ -1-(aminocarbonyl)propyl $\overline{\text{I}}$ -4-halogéno-butanamide de formule $\text{HalCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONHCH(C}_2\text{H}_5\text{)CONH}_2$ et en ce qu'il est préparé par condensation de (S)-2-amino-butanamide avec un halogénure de 4-halogénobutyryle de formule $\text{HalCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COHal}$, Hal étant un atome d'halogène.



Office européen
des brevets

RAPPORT DE RECHERCHE EUROPEENNE

0162036

Numéro de la demande

EP 85 87 0069

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS			
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	Revendication concernée	CLASSEMENT DE LA DEMANDE (Int. Cl.4)
A	FR-A-2 081 508 (UCB) * Revendications; page 9, ligne 10 * & GB - A - 1 309 692 (Cat.D,A)	1-6	C 07 D 207/27 A 61 K 31/40
A	FR-A-2 368 275 (UCB) * Revendication; page 1 * -----	1-6	
			DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int. Cl.4)
			C 07 D 207/00
Le présent rapport de recherche a été établi pour toutes les revendications			
Lieu de la recherche LA HAYE		Date d'achèvement de la recherche 16-07-1985	Examineur MAISONNEUVE J.A.
CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES			
X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire		T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet antérieur, mais publié à la date de dépôt ou après cette date D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant	

OEB Form 1503 03 82